ANNO V. OTTOBRE 1915 N. 18

TERAPIA

# In morte di PAOLO EHRLICH

pel Dott. C. CASTELLI

*già "Mitglied,, della Speyerhaus in Francoforte s./M.*

E, penso, opportuno, ch'io vinca la commozione che ha invaso l'animo mio all'annuncio della perdita irreparabile, per tributare alla memoria del maestro, dalle pagine di una rivista italiana, omaggio di allievo devoto: ad attestare che niente vale a sminuire, in animo latino, la gratitudine per qualche benevolenza usatami, in tanti anni di lavoro comune e fino a pochi mesi or sono: e che nessuna circostanza esteriore può indurmi a mutare od anche solo ad attenuare il giudizio sul valore dell'opera meravigliosa.

Scompare con Paolo Ehrlich una tempra di lavoratore instancabile ed un altissimo ingegno che seppe applicare fin dall'inizio allo studio dei più ardui problemi della biologia un indirizzo ed un metodo affatto originali; egli potè così scovrire una folla di nuovi veri; e seppe ordinarli e spiegarli mediante un'ipotesi geniale, che, quale ipotesi di lavoro, gli fu di guida per tutta la vita sua e che ancora gli sopravvive. Del pari ammirevoli erano in lui l'intuizione meravigliosa, che lo portava a trovare per ogni questione le soluzioni più semplici ed eleganti, la indomita tenacia colla quale proseguì per tanti lustri, a costo di reali sacrifici, compreso da pochi, spinto solo dalla gran luce che irradiava dalla sua mente, il piano di ricerche che si era primitivamente tracciato.

***

« Corpora non agunt nisi fixata »: questo assioma ricorre in tutte le lezioni che egli dettò negli ultimi anni, ed egli non si stancava di ripeterlo nei privati conversari; esso ha inspirato tutta la multiforme attività del grande scomparso: giovane studente all'Università, lasciò scritto egli stesso, durante il terzo semestre, sorse in lui l'idea, alla lettura di un lavoro di Heubel sull'avvelenamento da piombo, che lo studio del modo di distribuirsi dei medicamenti nell'interno dell'organismo dovesse essere della maggior importanza per lo sviluppo di una terapia razionale; questa idea si impossessò di lui così da indurlo a trascurare perfino il corso di studii iniziato, e su quest'idea egli costruì un programma di lavoro a cui tenne fede sempre, di poi: lo scopo della sua vita fu di ricercare come avvenga la fissazione delle varie sostanze dell'organismo; io ricordo che negli ultimi mesi erano assai vi-

vaci le discussioni sull'intimo meccanismo d'azione dei preparati arsenicali: si pensava da alcuni che essi esercitassero soltanto un'azione indiretta, per stimolazione dei poteri difensivi dell'organismo, nell'Istituto Speyer si potè invece dimostrare che l'azione spirillocida e tripanocida del Salvarsan è preceduta da una vera fissazione del medicamento sui microrganismi; tale osservazione procurò al maestro una grandissima soddisfazione; gli è che l'opera che egli aveva iniziata all'Università era così giunta al suo compimento; lo studio del « distributive Moment », dopo aver condotto a così larga messe nei campi della istologia e della batteriologia, della chimica come della clinica e della patologia generale, si veniva a costituire realmente come la base sulla quale costruire l'edificio di una nuova farmacologia. Dopo l'opera di Paolo Ehrlich questa branca delle scienze mediche non può continuare ad avere, come ebbe sino ai giorni nostri, un prevalente, per non dire esclusivo carattere di tossicologia, ma deve assumere risolutamente l'indirizzo di una chemoterapia sperimentale; compito precipuo del lavoro futuro sarà cioè quello di ricercare, con metodi chimici, composti che esercitino azioni elettive vuoi sui varî organi ammalati, vuoi sulle cause prime di molte malattie, i microrganismi patogeni.

⁂

Paolo Ehrlich non appartenne ad alcuna scuola; nato a Strehlen nel 1854 studiò a Breslavia e a Strassburgo, ed ebbe maestri, tra gli altri, Waldeyer, Cohnheim, Heidenhain; ma lo stesso Waldefer ha ricordato di recente che egli fu preso da grande meraviglia allorchè si accorse che il giovane Ehrlich, già nei primi tempi della sua frequenza al laboratorio, si provava a trattare i preparati istologici con sostanze coloranti nuove; e questo avveniva in un periodo di tempo in cui gli altri studenti avevano appreso a mala pena l'uso del microscopio; la tecnica di Ehrlich, aggiunge Waldeyer, ha aperto alla biologia un indirizzo nuovo, quale è quello dell'analisi chimico-biologica dei tessuti.

Nel 1878 Ehrlich è assistente alla clinica medica diretta da Frerichs; in questo periodo di tempo egli usò delle materie coloranti per ottenere dei reperti visibili sulla distribuzione di determinate sostanze nell'organismo; sono di quest'epoca gli studi sull'istologia del sangue, la scoperta delle *Mastzellen*, la colorazione del bacillo della tubercolosi, la diazoreazione nell'urina dei tifosi, l'introduzione del bleu di metilene per lo studio del sistema nervoso, le colorazioni vitali. Nel 1890 hanno principio gli studi nel campo dell'immunità; Ehrlich ricerca come si comportino nell'organismo l'abrina e la ricina; e le nozioni che ne trae trovano tosto applicazione teorica e pratica per la spiegazione e il dosaggio della tossina antidifterica. Nel 1896 Ehrlich ha un reparto nell'istituto di Steglitz ed espone in questo tempo la sua teoria delle catene laterali; nel 1899 è nominato direttore dell'istituto sieroterapico di Francoforte; il 1902 inizia gli studî sui tumori; il 1904 pubblica i

principali lavori sulle emolisine e sull'immunità; nel 1906 può incominciare, nell'Istituto Speyer, lo studio sistematico di una chemoterapia sperimentale.

⁂

Non è certo possibile dare qui un'esposizione, sia pur affrettata, di tutta l'opera di Paolo Ehrlich; vorrei però indicare, fra i numerosi lavori, quelli che valgano a dare un'idea del metodo da lui seguito; credo di dovermi perciò limitare ad accennare partitamente ad una pubblicazione del 1885: « Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus », alla teoria delle catene laterali e all'opera sua nel campo della chemoterapia. Nel primo lavoro la sostanza colorante è per la prima volta usata come reagente per determinare l'attività di elementi vivi: vi appare già la teoria delle catene laterali, che, sorta dalle nozioni di chimica delle sostanze coloranti, costituisce la guida lungo la quale si è venuta svolgendo tutta la successiva attività di Ehrlich e trova infine nell'opera di chemoterapia il suo degno coronamento.

Nel « Sauerstoffbedürfniss des Organismus » Ehrlich si propose di studiare come si comporta il protoplasma cellulare di fronte all'ossigeno Egli ricercò per questo scopo fra le sostanze coloranti alcune che potessero servire da indicatori dell'affinità del protoplasma, e le trovò nell'alizarina e nell'indofenolo, sostanze che possono ridursi trasformandosi nella leucobase incolora, e che possono ossidarsi di nuovo, ed in questo caso ridanno il colore originario. Or poichè quasi tutte le cellule riducono l'indofenolo e lasciano inalterata l'alizarina, si vennero a stabilire come i valori limite dell'affinità dei varî protoplasmi. La gigantesca molecola protoplasmatica possiede non una sola, ma parecchie affinità per l'ossigeno; queste hanno diverse energie, così come, ad esempio, hanno energie diverse tra loro i tre atomi di idrogeno dell'acido fosforico; i recettori per l'ossigeno possono dunque considerarsi distinti in tre gruppi; quelli del primo gruppo ne sono saturi; durante l'attività normale dell'organo essi costituiscono la riserva pei casi nei quali l'assunzione dell'ossigeno è resa difficile; un secondo gruppo contiene i recettori che funzionano durante la vita della cellula, in quanto essi vengono di continuo e successivamente ossidati e ridotti; un terzo gruppo è formato dai recettori che rimangono di regola privi di ossigeno ed esercitano perciò una continua attrazione sull'ossigeno del sangue.

Dei processi di ossidazione nel protoplasma alcuni si compiono con un meccanismo analogo a quello seguendo il quale le aldeidi si trasformano in acidi, vale a dire per diretta addizione di ossigeno; altri invece corrispondono a reazioni invertibili simili a quella, per cui dall'idrochinone si forma il chinone e viceversa dal chinone si riforma l'idrochinone: cioè, a differenza che in quelli succitati, non si ha addizione dell'elemento elettronegativo ($O$), ma in primo tempo l'ossigeno agisce in quanto toglie dalla molecola dell'idrochinone due

atomi dell'elemento elettropositivo (H), poscia, invertendosi la reazione nella ritrasformazione del chinone in idrochinone l'ossigeno ridiventando libero può spiegare delle azioni ossidanti molto energiche.

Ci si potrebbero raffigurare i singoli recettori del protoplasma con una costituzione analoga; con due gruppi coniugati, che si riuniscono tra loro, per l'allontanamento dei due atomi d'idrogeno, durante l'ossidazione, e che si riaprono per la riduzione.

Si è osservato poi che l'indofenolo fissa l'ossigeno dell'aria se in soluzione alcalina, ed invece se in soluzione acida si riduce: analogamente si comportano forse i recettori protoplasmatici; essi sono continuamente irrorati da liquido alternativamente alcalino od acido a seconda che prevale l'alcalescenza del sangue o l'acidità che vien data dai prodotti di combustione e in ispecie dall'anidride carbonica.

Sulla base delle analogie chimiche Ehrlich è dunque giunto ad esporre una teoria della combustione fisiologica: la molecola di ossigeno che arriva nel protoplasma di una cellula normale, che ha reazione alcalina ed è provvista di un gran numero di recettori per l'O non saturi, va a saturare dapprima i recettori che hanno una maggiore energia, e di poi quelli con energia gradatamente minore; la fissazione si fa, procedendo, sempre più labile ed arriva infine un momento nel quale l'ossigeno si lega così labilmente che può ossidare una catena laterale: si forma anidride carbonica ed incomincia la fase dell'acidificazione; quivi si compie la combustione la quale prosegue fino a che il processo di riduzione ha raggiunto i recettori ove l'ossigeno è così fortemente legato cht non può venir ceduto alle catene laterali ancora presenti: in questo momento cessa la formazione di acido; si ristabilisce, per influenza dell'alcalinità del sangue, la reazione alcalina; e ripiglia il processo di riassunzione dell'ossigeno.

Ho voluto accennare con qualche ampiezza a questa prima opera di Ehrlich perchè appaia chiaramente che fu per tutta la vita sua preoccupazione costante quella di guadagnare allo studio e alla spiegazione dei fenomeni biologici il sussidio che può essere fornito dai metodi dell'indagine chimica.

***

Anche per spiegare la distribuzione delle sostanze attive nell'organismo Ehrlich fece ricorso alle sostanze coloranti e illustrò un grandissimo numero di sostanze neurotrope che nella grande maggioranza erano anche lipotrope, e addentrandosi a studiarne l'intimo meccanismo d'azione potè mostrare che questi composti a costituzione chimica nota, così come gli antipiretici e i narcotici, agiscono sull'organismo per le loro proprietà fisiche, mentre altre sostanze quali le tossine si fissano sui varî organi in virtù di particolari affinità chimiche con determinate parti delle cellule. Queste ultime sostanze sono capaci di dare origine alla formazione di anticorpi: ed Ehrlich suppose un diretto rapporto genetico fra le catene laterali delle cellule e i gruppi recettori dell'an-

titossina, e in genere degli anticorpi; le antitossine non sarebbero altro che catene laterali staccatisi dalla cellula madre. Il fissarsi della tossina sul protoplasma cellulare non sarebbe, in ultima analisi, che un processo di assimilazione poichè le tossine si fissano alle cellule con meccanismo in tutto uguale a quello col quale vi si fissano le sostanze nutritive; la differenza sta soltanto in questo: che mentre i recettori che hanno fissato le sostanze nutritizie se ne liberano presto, quelli che sono stati occupati dalla tossina restano occupati per più lungo tempo e sono resi incapaci di ulteriore lavoro; il protoplasma cellulare reagisce in questo caso con un processo di iperrigenerazione secondo la legge di C. Weigert. Se le iniezioni vengono ripetute e quindi l'ossigeno si accumula, si vengono a formare nuovi recettori in tal numero da tornar di danno al normale funzionamento della cellula; questa si libera dal sovrappiù che la danneggia e i recettori cadono così nel circolo; e forse questo staccarsi dei recettori del protoplasma è determinato da uno stimolo dovuto al gruppo tossoforo; Ehrlich ha distinto i recettori in tre classi: i recettori di primo ordine posseggono un solo gruppo aptoforo; quelli di secondo ordine portano, oltre al gruppo aptoforo, un gruppo ergoforo, il fermento del quale vien a trovarsi a contatto colla sostanza da assimilare; i recettori del terzo ordine portano, oltre al gruppo aptoforo per la molecola nutritiva un secondo gruppo aptoforo detto complementofilo per fissare speciali sostanze ad azione di fermenti circolanti nel sangue; i recettori di primo ordine danno le antitossine, gli anticomplementi e gli antifermenti; quelli di secondo ordine agglutinine, coaguline e precipitine; i recettori di terzo ordine danno gli ambocettori emolitici e batteriolitici. La ipotesi di Ehrlich sull'origine degli anticorpi ha avuto una enorme importanza, in quanto essa ha valso ad ordinare tutto quel cumulo di nozioni che si possedevano in questo campo dell'immunità ed ha portato alla scoperta di fatti e di leggi che hanno assunto ed hanno tuttora il più alto valore teorico e pratico; Wassermann ha attestato che senza la dottrina di Ehrlich non si sarebbe mai potuto giungere alla sierodiagnosi della sifilide; da un punto di vista teorico questa dottrina ha reso possibile di attirare nel circolo sanguigno e di sottoporre quindi a studio accurato i recettori che ogni cellula possiede e di cui essa fa uso per la fissazione di determinate sostanze nutritive. Il mistero della vita, osserva Ehrlich, può venir paragonato a un meccanismo assai complicato; esso non viene certo spiegato interamente con questa teoria; essa ci offre però la possibilità di levar fuori, per così dire, le singole ruote e di studiarle separatamente.

L'opera di Paolo Ehrlich culmina, come si è detto, nei lavori suoi di chemoterapia. Egli ha rivendicato a sè stesso in più occasioni il merito di aver per primo insistito sulla necessità che la farmacologia ponesse a fondamento di ogni sua ricerca lo studio del modo di distribuirsi delle varie sostanze nell'organismo; gli anticorpi esercitano un'azione elettiva verso l'antigeno; or per la cura di quelle tra le malattie infettive nelle quali non si ha una forte e duratura immunità è necessario far ricorso a rimedî chimici.

Il farmacologo deve dunque cercare di costruire, mediante variazioni chimiche, farmaci capaci di vincere l'agente morboso; la vera medicina specifica, quella che renderà possibile l'attuare in una malattia infettiva una terapia causale, dovrà riunire in sè un aggruppamento chimico che permetta la fissazione della sostanze sul germe patogeno, ed un gruppo che eserciti un'azione deleteria sul microrganismo; la pratica ha poi mostrato che è necessaria la presenza di un terzo aggruppamento chimico per unire fra loro i primi due; sarà carattere precipuo del gruppo di fissazione la capacità di fissarsi soltanto sul germe che si vuol debellare e non sull'organismo.

***

Tracciatosi questo piano di azione Ehrlich, ricco di tutte le esperienze raccolte negli studî immunitarî e nelle ricerche sull'azione delle sostanze coloranti, abbandonò quasi interamente ogni altra cura; lasciò agli scolari suoi di proseguire nelle indagini avviate, e si diede tutto alla nuova bisogna. Vero stratega egli si propose un campo d'azione ben delimitato: le spirillosi e le tripanosomiasi; potè circondarsi di chimici valenti, ed elaborò una tecnica biologica semplicissima, tale da permettergli di seguire l'azione dei farmaci nell'animale ammalato colla maggior possibile esattezza; per anni ed anni il fido Kadereit distribuì ogni mattina le caratteristiche « Zetteln », cartoncini di vario colore ognuno dei quali era stato preventivamente catalogato e copiato; ve n'erano ogni giorno per ciascuno di noi; su di essi il maestro veniva tracciando al chimico ed al medico, allo zoologo ed al botanico riuniti alla Speyer sotto la sua direzione, il lavoro che egli desiderava si compisse. E si lavorava bene così! Le serie di animali si moltiplicavano senza posa, per neutralizzare col gran numero delle osservazioni le oscillazioni di risultati prodotte dalle varietà della resistenza individuale; Ehrlich faceva poi la sintesi delle singole osservazioni; e mostrava d'apprezzare altamente il lavoro eseguito purchè i dati che gli si mostravano fossero esatti! Si potè grazie a questa organizzazione introdurre in una determinata sostanza gruppi chimici svariati, e seguirne regolarmente l'azione tenendo nota dell'aumento o della diminuzione della tossicità e dell'azione curativa; si potè anche rendere più spiccata l'attività per i varî organi; così ad esempio, coll'introdurre gruppi chimici diversi nel residuo dell'acido fenilarsenico si sono ottenuti dei preparati la cui tossicità varia da uno a 1500 e si è osservato che in seguito all'introduzione nella molecola di un dato aggruppamento si aveva la morte dell'animale per lesioni intestinali, per l'introduzione di un gruppo diverso si ottenevano lesioni del fegato e itterо; un terzo gruppo dava lesioni del sistema nervoso; e un quarto provocava una spiccata emolisi.

Anche le indagini di chemoterapia incominciarono dallo studio delle sostanze coloranti; Ehrlich sperimentò dapprima coi colori della serie della benzopurpurina; ed osservò con Shiga che il Tripanrot poteva

condurre a guarigione una parte di topi infettati col mal di Caderas, sebbene questa sostanza non esercitasse alcuna efficacia sui tripanosomi in vitro; fu questa un'osservazione assai notevole perchè mostrò che si possono trovare rimedii capaci di esplicare un'intensa azione curativa anche all'infuori dei comuni disinfettanti; tra i derivati del trifenilmetano si mostrarono dotati di azione contro i tripanosomi la parafucsina e il triparosan; ma i preparati che diedero ad Ehrlich i migliori successi furono gli arsenicali.

L'atoxil era già stato raccomandato da molti per la cura delle tripanosomiasi; era stato usato a questo scopo anche da Koch; il meccanismo della sua azione era però oscuro; questo preparato agiva infatti nell'organismo, e non aveva alcuna azione nè sui tripanosomi nè sulle spirochete in vitro; si supponeva che esso esercitasse un'azione indiretta; ma Ehrlich osservò, in esperienze sui topi, che i vari individui presentano una grande diversità nel grado di tollerabilità dell'atoxil, e che esiste uno stretto rapporto tra l'intensità dell'azione terapeutica e la tossicità di questa sostanza; e cioè gli animali che vengono a morte non hanno più tripanosomi in circolo; egli suppose perciò che l'atoxil si trasformasse nell'organismo dando un prodotto più efficace ma in pari tempo più tossico, e si propose di modificare la costituzione chimica dell'atoxil in modo da ottenere per via sintetica un tale prodotto di elaborazione; ora, chimicamente l'atoxil non è già, come si credeva, l'anilide dell'acido ortoarsenico, perchè non si lascia saponificare, dà le reazioni delle amine primarie e quelle degli acidi arsenici aromatici primarî; esso è invece il sale sodico dell'acido paraaminofenilarsenico; ed è possibile ottenere da esso numerosi derivati; fra tutti quelli così ottenuti il Salvarsan mostrò, alla prova biologica, di possedere la minor tossicità e un'azione curativa assai spiccata. In questo preparato, secondo Ehrlich, il gruppo arsenicale agisce come gruppo tossoforo, il residuo benzolico come gruppo di unione tra esso e l'amidofenolo, mentre l'amidofenolo ha l'ufficio di fissarsi sui parassiti, con un'elettività assai pronunziata, in modo da portare il gruppo tossoforo a contatto di questi e non delle cellule dei vari organi.

Alla indagine chimica e biologica doveva seguire e nel fatto seguì il laborioso ed agitato periodo della applicazione del farmaco nella terapia umana; Ehrlich si pose di botto a capo di un'organizzazione formidabile, intesa a spronare i medici alla prova del nuovo rimedio, a vincere le diffidenze e frenare le impazienze, a indicare via via indicazioni e controindicazioni, a suggerire di continuo modificazioni e miglioramenti nella tecnica di somministrazione, ed a tener nota di ogni singola osservazione; proseguivano, in pari tempo, indefessamente i lavori di laboratorio che portarono al Neosalvarsan, al Salvarsankupfer, al Sarvarsannatrium. Non è ancora del tutto spenta l'eco delle voci che si alzarono d'ogni parte pro e contro il nuovo rimedio; la cam-

pagna contro il Salvarsan non fu sempre nobile ed alta, come si sarebbe potuto forse sperare; interessi lesi, animosità di scuole, competizioni di casta e di nazionalità trascinarono spesso il dibattito ben lungi da quella che avrebbe dovuto rimanere la sua sede esclusiva; da tutte queste lotte piccine la causa del Salvarsan e della chemoterapia è uscita trionfante; ma un grave ed irreparabile danno ne venne ad Ehrlich; avvezzo al quieto lavoro di laboratorio egli si trovò tosto a disagio fra tante e tanto irose diatribe; non ritrovò più che a rari intervalli quel suo buon umore che gli era, per l'innanzi, abituale, che lo portava al motto arguto, alla narrazione dell'episodio allegro e che si coronava sovente nella risata piena e rumorosa; ogni piccola polemica, ogni accusa, per quanto sciocca e volgare, lo amareggiava all'eccesso; sembrava a noi che egli col rilevarle desse troppa importanza a delle inezie; si arrivò perfino ad un processo regolare e clamoroso contro un infelice che aveva raccolto le lagnanze di alcune prostitute; e il processo ebbe strascichi e ripercussioni dolorose sulle condizioni di salute di Erhlich. Dal marzo 1914, subito dopo le memorabili feste che gli furono tributate in occasione del suo sessantesimo compleanno, andò diminuendo anche la sua frequenza all'istituto; credo di poter attestare che verso quell'epoca, assai prima dunque delle fatali idi d'agosto, si arrestò la cosciente attività del maestro: lo scoppio della guerra lo trovò a Baden Baden dove egli si era recato per cercare invano tranquillità e riposo, ed ora è morto ad Homburg v. d. H.

Ma colla scomparsa di Ehrlich non viene meno l'idea che informata tutta la vita sua; l'indirizzo che egli ha impresso alla scienza biologica in genere e alla farmacologia in ispecie vale a dire la necessità dell'unione intima fra la chimica e la terapia sperimentale, racchiude in sè il germe di futuri trionfi. Il maestro ha poste le salde basi teoriche; egli è arrivato a dare la dimostrazione della possibilità di vincere, a furia di successive modificazioni chimiche, la causa stessa dei morbi. Il valore del Salvarsan sta appunto, a mio avviso, nel fatto che esso porta la invocata dimostrazione; il preparato è certo suscettibile di modificazioni e di miglioramenti per quanto ha riguardo alla cura di spirillosi e di tripanosomiasi umane, ma esso tronca di botto il corso di infezioni gravi del pollo, del topo, del ratto, del coniglio e anche dell'uomo (recurrens, framboesia); ed agisce così perchè si fissa, in un primo tempo, sull'agente morboso; rappresenta dunque per le infezioni accennate la terapia specifica.

Ai discepoli, che Ehrlich lascia in gran numero, spetta ora il compito di seguire la via che egli ha tracciata; ed è un conforto per lo studioso il sapere che gli sopravvive una scuola ben agguerrita: Morgenroth e Sachs, Wassermann e Neisser, Benda e Karrer, per citarne solo alcuni, sapranno tener fede alla dottrina del grande scomparso.

---